

INTENCIÓN DE USO

El equipo CEA está intencionado principalmente para la determinación de la concentración de CEA en el suero humano.

RESUMEN Y APLICACIÓN

El Antígeno Carciembrionario (CEA) es una glicoproteína de superficie celular de 200-kd. En 1969, fue reportado que el CEA plásmico estaba elevado en 35 de 36 pacientes con adenocarcinoma de colon y que los residuos de CEA disminuyeron exitosamente después de cirugía. Niveles normales se observaron en todos los pacientes con otras formas de cáncer o enfermedades benignas. Estudios subsecuentes no han comprobado estos hallazgos iniciales, y es entendido ahora que niveles elevados de CEA son encontrados en varios cánceres. Niveles elevados de CEA son observados en más del 30% de los pacientes con cáncer de pulmón, hígado, páncreas, mama, cabeza o cuello, vejiga, cervix y próstata. Niveles elevados de plasma están relacionados con la etapa y la extensión de la enfermedad, el grado de diferenciación del tumor y la posición de la metástasis. CEA también puede ser encontrado en tejido normal.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

La prueba CEA CLIA es un inmunoensayo sólido de dos posiciones. Un anticuerpo monoclonal cubre la superficie de los pocillos y otro anticuerpo monoclonal es etiquetado con peroxidada equina, la cual es usada como rastreador. Las moléculas de CEA presentes en el estándar o el suero son emparejadas entre los dos anticuerpos. Siguiendo la formación del complejo anticuerpo recubierto-antígeno-anticuerpo-enzima. Las etiquetas des adheridas anticuerpo-enzima son removidas mediante el lavado. La peroxidada equina es adherida en los pocillos es analizado por reacciones quimioluminiscientes. La Unidad de Luz Relacionada (RLU) es proporcional a la concentración de CEA presente en la muestra.

MATERIALES SUMINISTRADOS

1. Plato con 96 pocillos impregnados con anticuerpo monoclonal Anti - CEA
2. Enzima conjugada reactivo, 12ml.
3. CEA estándar de referencia 1 set contiene 5, 10, 20, 40, 80, y 160 ng/ml.
4. CLIA sustrato A, 6 ml
5. CLIA sustrato B, 6ml
6. Control 1: Liofilizado
7. Control 2: Liofilizado
8. PBS en polvo, 2 bolsas de 5 g.

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Pipetas de precisión y puntas, 0.1ml, 0.02ml
2. Agua destilada.
3. Tubos de vidrio o frascos para mezclar CLIA sustrato A y B
4. Mezclador Vórtex
5. Papel absorbente o una toalla de papel
6. Papel para gráfica logarítmica
7. Un Luminómetro

ALMACENAMIENTO DE EQUIPO E INSTRUMENTACIÓN

1. El equipo sin abrir deben guardarse a 2-8 °C a partir de la recepción y la placa debe guardarse en una bolsa sellada con desecantes para minimizar la exposición a la humedad del aire.
2. El equipo se puede utilizar en toda la fecha de caducidad del equipo. Consulte la etiqueta del frasco para la fecha de caducidad.
3. El equipo abierto se mantendrá estable hasta que expira la fecha indicada, siempre y cuando se almacena según lo estipulado anteriormente.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico *in vitro* solamente.
2. El manejo de reactivos o muestras de suero deben estar de acuerdo con los procedimientos de seguridad local.
3. Los estándares contienen componentes de origen humano, que se han probado y no reaccionaron para el antígeno de superficie de la hepatitis B, así como tampoco contra anticuerpos anti-VIH.
4. Todos los productos de origen animal y derivados han sido recogidos de animales sanos. Los componentes de origen bovino son originarios de países en los que la EEB no ha sido reportada. Sin embargo, los estándares y componentes que contienen sustancias animales deben ser tratados como potencialmente infecciosos.
5. Evitar cualquier contacto de los reactivos con la piel.
6. No fumar, comer, beber o aplicar cosméticos en la zona de trabajo. No pipetear con la boca. Uso ropa protectora y guantes desechables.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. La sangre debe extraerse usando técnicas estándar de venopunción y el suero debe ser separado de los glóbulos rojos de la sangre tan pronto como sea posible. Evite totalmente hemólisis, lipemia o turbidez en las muestras.
2. Las muestras de plasma recogidas en los tubos que contengan EDTA, heparina u oxalato pueden interferir con los procedimientos de ensayo y debe evitarse.
3. Las muestras deberán ser niveladas y se puede almacenar hasta 48 horas a 2-8 °C, antes de ensayo. Los especímenes retenidos para un tiempo más largo pueden ser congelados a -20°C. Los especímenes deben ser mezclados antes de la prueba.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

1. Todos los reactivos deben estar a temperatura ambiente (18 - 25 °C) antes de su uso.
2. Reconstituir cada estándar y control liofilizado con la cantidad de agua destilada indicada en el frasco. Deje el material reconstituido en reposo durante al menos 10 minutos. Los estándares reconstituidos deben ser almacenados de 2-8°C
3. Para preparar el Buffer de lavado añadir una bolsa de PBS-T a 500 ml de agua destilada y mezclar. El buffer de lavado es estable a temperatura ambiente durante dos meses.
4. Determine la cantidad de solución sustrato necesaria y prepárela mezclando partes iguales del sustrato A y B en un contenedor limpio. Descarte la porción no empleada si no es usada 20 minutos después de haber mezclado.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Asegure el número deseado de revestimiento de pozos en el receptor. Dispensar 20 µl de estándares de CEA, muestras y los controles en los pocillos apropiados.
2. Dispensar 100 µl de enzima conjugada a cada pocillo. Mezclar suavemente durante 30 segundos.
3. Incubar a 37°C por 60 minutos.
4. Al final de la incubación, retire la mezcla de incubación vaciando el contenido de la placa en un contenedor de residuos. Enjuagar y vaciar la placa 5 veces con solución de lavado de amortiguación. Secar la placa sobre un papel absorbente o toallas de papel para eliminar todas las gotas de agua residual. El volumen del pozo es de aproximadamente 300 µl.
5. Dispensar 50 µl de sustrato A y 50 µl de sustrato B. mezcle suavemente durante 10 segundos.
6. Incubar a temperatura ambiente en la oscuridad durante 5 minutos sin agitar y leer los valores de RLU con un Luminómetro.

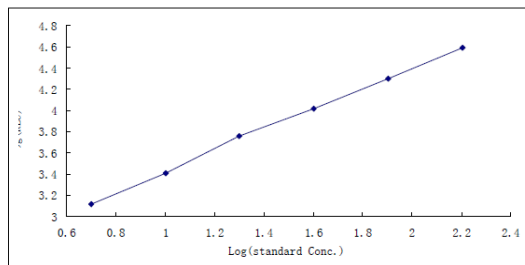
CÁLCULO DE RESULTADOS

1. Calcule el valor medio de los reactivos duplicado. En su caso, los valores medios se deben utilizar para el trazado.
2. El diagrama lineal papel cuadrículado el RLU (ordenadas) obtenidos a partir de cada estándar de referencia contra la correspondiente concentración de CA125 en U/ml (eje de abscisas) y trazar una curva de calibración a través de los puntos de referencia estándar mediante la conexión de los puntos trazados con líneas rectas.
3. Lea la concentración de cada control y la muestra por interpolación en la curva de calibración.
4. La asistencia de la computadora simplifican y reducen los datos de estos cálculos. Si el proceso de resultado automático se utiliza se recomienda un punto de ajuste de la curva de puntos de función. Cualquier muestra diluida debe ser corregida por el factor de dilución.

EJEMPLO DE CURVA ESTÁNDAR

Una curva típica estándar se muestra a continuación es para fines de ilustración solamente, y nunca debe ser en lugar de la curva de calibración de la hora real.

CEA (ng/ml)	RLU
5	1316.4
10	2579.1
20	5743.5
40	10477.9
80	20036
160	39426.2



VALORES DE REFERENCIA

Cada laboratorio debe establecer su propio rango normal. La siguiente información se da sólo para orientación. Aproximadamente el 95% de la población sana normal tiene niveles de CEA menos de **5 ng/ml**.

PERFORMANCE

1. Sensibilidad:

El límite de detección se calcula a partir de la curva estándar mediante la identificación de la concentración correspondiente a la media de RLU diluyente estándar (basado en 10 análisis repetidos), además de SD 2. Por lo tanto, la sensibilidad de la autobiografía CEA CLIA no es mayor que 2.5 ng/ml.

2. Especificidad:

No se detectó interferencia con el desempeño de CEA CLIA con la adición de grandes cantidades de las sustancias siguientes a un pool de suero humano.

Substance	Concentration
AFP	500ng/ml
CA125	400U/ml
CA15-3	500U/ml
CA19-9	500U/ml

3. Precisión:

Intra-ensayo de precisión se determinó analizando 20 repeticiones de cada uno de los sueros de control.

Suero	Número	Media	SD	CV (%)
Titulo bajo	20	33.78	2.06	6.10
Titulo alto	20	99.16	5.23	5.27

Inter-ensayo de precisión se determinó analizando duplicados de cada uno de los sueros de control en 10 corridas por separado

Suero	Número	Media	SD	CV (%)
Titulo bajo	10	34.86	2.66	7.63
Titulo alto	10	102.34	5.34	5.22

4. Alta dosis de gancho:

No se produjo efecto de gancho con la concentración de CEA hasta 3200 ng/ml.

LIMITACIONES

1. Resultados confiables y reproducibles serán obtenidos cuando el procedimiento de ensayo se lleva a cabo con una comprensión completa del prospecto y con el cumplimiento de laboratorio la práctica.
2. Anticuerpos heterófilos en el suero humano pueden reaccionar con el reactivo de inmunoglobulinas, lo que interfiere con ensayos de inmunidad in vitro. Los pacientes expuestos rutinariamente a los animales o productos de origen animal, pueden ser propensos a esta interferencia por lo tanto los valores anómalos pueden ser observadas. Adicional información puede ser necesaria para el diagnóstico.
3. Muestras de suero con lipemia, hemolisis o turbidez no debe ser utilizado con esta prueba.
4. Para el diagnóstico, los resultados obtenidos con esta prueba se debe utilizar en conjunto con el examen clínico, la historia médica del paciente, y otros hallazgos.

CONTROL DE CALIDAD

Buenas prácticas de laboratorio requiere que las muestras de control de calidad deben procesarse con cada curva de calibración para verificar el rendimiento del ensayo. Para asegurar el funcionamiento adecuado, un número estadísticamente significativo de los controles deben ser analizados para establecer los valores medios y rangos aceptables. Controles que contengan ácido de sodio no debe ser utilizado.

REFERENCIAS

1. Gold P, Freedman S O. Demonstration of tumor specific antigen in human colonic carcinomata by immunologic tolerance and absorption techniques. J Exp Med 1965; 127: 439-462
2. Thompson D P M, Kruepy J, Freedman S O, et al. The radioimmunoassay of circulating carcinoembryonic antigen of the human digestive system. Proc Natl Acad Sci USA 1969;64: 161-167
3. Schwartz M K. Tumor markers in diagnosis and screening. In: Ting S W, Chen J S, Schwartz M K, eds. Human tumor markers, Amsterdam: Elsevier Science, 1987;3-16
4. Zamcheck N. and Martin E. W. Sequential Carcinoembryonic Antigen Levels in Pancreatic Cancer: Some Clinical Correlations. Cancer 1981; 47: 1620-1627
5. Mughal A. W., Hortobagyi G.N., Fritsche H.A., Buzdar A.U. Yap H-Y., and Blumenschein G.R. Serial Plasma Carcinoembryonic Antigen Measurements During Treatment of Metastatic Breast Cancer. JAMA 1983;259:1881-1886